**Efek Pemberian Ekstrak Buah Kersen (*Muntingia Calabura*) terhadap Histopatologi Paru Tikus yang Dipapar Asap Rokok**

**Effect of Kersen Fruit Extract (*Muntingia Calabura*) on the Histopathology of Rat Lungs Exposed to Cigarette Smoke**

Ika Dyah Kurniati[1)], Dyah Mustika Nugraheni[1)]

[1)]Bagian Biomedik, Fakultas Kedokteran, Universitas Muhammadiyah Semarang

Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Semarang
Jalan Kedungmundu Raya No.18 Semarang. Email: ika@unimus.ac.id

**Abstrak**

**Latar belakang :** Oksidan yang terkandung dalam asap rokok dapat menyebabkan terjadinya stres oksidatif. Buah kersen (*Muntingia calabura*) mengandung antioksidan diantaranya flavonoid. Penelitian ini bertujuan mengetahui efek proteksi ekstrak buah kersen terhadap kerusakan histologis alveolus paru tikus *Sprague dawley* yang terpapar asap rokok
**Metode :** Tikus sejumlah dibagi 4 kelompok, kemudian di papar asap rokok 7 batang perhari dan ekstrak buah kersen (EBK) selama 4 minggu. Kelompok pertama sebagai kontrol (K1) diberi plasebo, kelompok kedua (K2) dipapar asap rokok saja, sedangkan sisanya merupakan kelompok Perlakuan 1 (P1) diberi EBK 100mg/kgBB/hari dan Perlakuan 2 (P2) diberi EBK 200mg/kgBB/hari. Perbedaan derajat kerusakan alveolus di analisis dengan *Kruskal-Wallis Test.*
**Hasil** : Rerata derajat kerusakan alveolus pada kelompok kontrol (K1)sejumlah (69,44) kelompok perlakuan 1 (P1) sejumlah (80,00) dan kelompok perlakuan 2 (P2) sejumlah (79,63) sedangkan yang terendah yaitu pada kelompok kontrol paparan asap rokok (K2) sejumlah (61,11). Nilai $P =$ 0.464, menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaaan yang bermakna derajat kerusakan alveolus antar kelompok, dimana rerata derajat kerusakan alveolus paru > 60% (kerusakan berat).
**Simpulan** : Pemberian ekstrak buah kersen tidak berpengaruh terhadap gambaran mikroskopis paru tikus yang di papar asap rokok.
**Kata kunci :** asap rokok, buah kersen, kerusakan histologi alveolus paru

**Abstract**

**Background:** Oxidant which is contain in cigarette smoke increases oxidative stress. Kersen fruit (Muntingia calabura) contains antioxidants including flavonoids. The purpose of this study is to proves protecting effect of kersen fruit extract on the lung tissue.
**Method:** Rats were divided into 4 groups that had been exposed 7 cigarrete smoke a day and given kersen fruit extract (KFE) for 4 weeks. The first group as the control group (K) was given a placebo, second group were exposed cigarrete smoke only, treatment group 1 (T1) and treatment group 2 (T2) were treated with 100 and 200mg/kgBodyWeight/ day KFE, respectively. The difference in the degree of alveolar damages were analyzed.
**Results:** There were no significant differences in the degree of alveolar damages between groups. The average degree of alveolar damages was severe, where the alveolar damages were> 60%.
**Conclusion:** Kersen fruit has no effect on the histopathology of alveolar damage
**Keywords: cigarette smoke, kersen fruit, alveolar damages**

**Latar Belakang**

PPOK (Penyakit Paru Obstruksi Kronis) merupakan salah satu masalah kesehatan di dunia, dimana prevalensinya yang tinggi memberikan dampak sosial ekonomi yang buruk. PPOK saat ini merupakan penyebab kematian no. 4 di dunia, dan kemungkinan akan meningkat menjadi no 3 pada tahun 2020.[1,2] PPOK dapat disebabkan antara lain oleh polusi udara dan asap rokok.[2,3,4] Menurut data WHO, Indonesia merupakan negara ketiga setelah Cina dan India yang memiliki jumlah perokok aktif terbanyak di dunia yaitu sebesar 61,4 juta perokok. Perilaku merokok penduduk Indonesia cenderung meningkat dari 34,2% pada tahun 2007 menjadi 36,3% pada tahun 2013.[1]

Dalam setiap hisapan rokok, terdapat $10^{14}$ radikal bebas dan dapat dipertahankan dalam waktu yang relatif lama (>10 menit). Asap rokok tersebut merupakan oksidan yang dapat menghilangkan antioksidan intraseluler dalam sel paru-paru dan berhubungan dengan mekanisme peningkatan stres oksidatif dengan mengaktifkan makrofag alveolus untuk melepaskan sitokin antara lain LB4, IL-8 dan TNF-α.[5-8]

Untuk mencegah dampak buruk akibat senyawa radikal penyebab kerusakan sel, dibutuhkan antioksidan yang dapat berasal dari tubuh sendiri maupun dari luar. Dari dalam tubuh akan dibentuk senyawa untuk menetralisir antara lain SOD (superoksid dismutase), dari luar antara lain dari makanan dimana mengandung zat antioksidan yang digunakan sebagai pemutus rantai (*chain-breaking antioxidant*) yaitu vitamin C, vitamin E, beta karoten, dan golongan flavonoid.[9,10]

Buah kersen (*Muntingia calabura* Linn) adalah buah yang banyak tumbuh di Indonesia, namun masyarakat belum banyak mengetahui manfaat dari buah kersen dan menyebabkan banyaknya buah kersen yang tidak digunakan manfaatkan terutama dibidang kesehatan. Buah kersen (*Muntingia calabura* Linn) memiliki aktivitas antioksidan yang kuat karena kandungan asam askorbat (vitamin C) yang tinggi ,vitamin A dan juga mineral seperti kalsium dan fosfor. Kandungan vitamin C buah kersen

(379,75mg) 3x lipat dari buah mengkudu (175mg). Dosis lethal ekstrak buah kersen adalah 1000mg/kg. Hasil ekstrak polifenol buah kersen menunjukkan bahwa buah kersen mengandung antioksidan antara lain vitamin C (33,6mg AAE/g ekstrak), vitamin E (14,7mg TE/g ekstrak), total fenol (121,1mg GAE/g ekstrak), flavonoid (173,2mg RE/g ekstrak) dan antosianin (82,4mg CGE/g ekstrak).[11]

Buah kersen merupakan salah satu sumber antioksidan alami yang mudah dibudidayakan di Indonesia. Kandungan antioksidan pada buah kersen, diharapkan dapat menurunkan jumlah oksidan yang disebabkan paparan asap rokok yang terhirup oleh paru-paru. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek proteksi ekstrak buah kersen terhadap kerusakan histologis alveolus paru tikus *Sprague dawley* yang di papar asap rokok.

**Metode**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik dengan rancangan *Post Test Only Control Group Desain.* Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan dari komisi etik Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang. Tempat penelitian dilakukan di di Laboratorium Unit Pangan dan Gizi Pusat Antar Universitas (PAU) Universitas Gajah Mada (UGM), Laboratorium Patologi Anatomi FK UGM-RS Sardjito Yogyakarta dan Laboratorium Patologi Anatomi FK UNDIP Semarang periode Agustus-Oktober 2016.

**Subjek Penelitian**

Hewan coba yang dipakai pada penelitian ini adalah tikus putih jantan galur *Sprague-Dawley*. Kriteria inklusi adalah umur 2-3 bulan, berat 150–200 gram, sehat. Kriteria eklusi adalah tikus tidak bergerak aktif, terdapat abnormalitas anatomi yang tampak. Kriteria *drop out* adalah tikus mati. Besar sampel ditentukan berdasarkan rumus WHO[12] jumlah sampel setiap kelompok perlakuan minimal 5 ekor tikus tiap kelompok. Antisipasi *drop out* dilakukan dengan menambahkan 1 tikus pada masing-masing kelompok.

**Pembuatan Ekstrak metanol buah kersen (*Muntingia calabura*)**

Buah kersen segar di blender kemudian diekstrak menggunakan metanol dengan perbandingan 1:3 (jus buah : pelarut) menggunakan *orbital shaker* pada suhu ruang, kemudian ekstrak di *sentrifuge* dan supernatan dikumpulkan. Untuk mendapatkan maserat digunakan *rotary evaporator* pada suhu 40$^{o}$C dilanjutkan dengan diuapkan dengan nitrogen sehingga didapatkan ekstrak buah kersen yang kental dan konsentrasinya mendekati 99 %. Dosis ekstrak buah kersen yang dibuat adalah 100 mg/kg BB dan 200 mg/kg yang dilarutkan dalam Na CMC 0,5% 2ml/200gr BB.

**Protokol Penelitian**

Sampel tikus *Sprague-Dawley* jantan dibagi menjadi 4 kelompok secara random. Kelompok pertama sebagai kontrol (K) yang diberikan placebo (Na CMC 0,5%) dan paparan asap rokok kretek tanpa filter 7 batang per hari. Kelompok perlakuan satu (P1) yang diberikan ekstrak buah kersen melalui sonde lambung dengan dosis 100 mg/kg BB yang dilarutkan dalam Na CMC 0,5% 2ml/200gr BB dan paparan asap rokok 7 batang per hari. Kelompok ketiga sebagai perlakuan dua (P2) yang diberikan ekstrak buah kersen melalui sonde lambung dengan dosis 200 mg/kg BB yang dilarutkan dalam Na CMC 0,5% 2ml/200gr BB dan paparan asap rokok 7 batang per hari. Pemberian ekstrak buah kersen diberikan 30 menit sebelum pemaparan asap rokok. Paparan asap rokok dan pemberian ekstrak buah kersen dilakukan selama 4 minggu.

Setelah 4 minggu perlakuan, tikus di terminasi dan diambil jaringan paru kemudian dilakukan pemrosesan jaringan dan pengecatan HE sesuai standar pemeriksaan histopatologi di Laboratorium Patologi Anatomi FK UGM.

**Penilaian Derajat Kerusakan Alveolus Paru**

Penilaian derajat kerusakan alveolus paru dilakukan oleh Ahli Patologi Anatomi, dengan kriteria penilaian sebagaimana pada tabel 1. Setiap preparat jaringan paru diamati gambaran mikroskopisnya dengan perbesaran 400 kali pada 5 lapang pandang secara acak.

Tabel 1. Kriteria Penilaian Derajat Kerusakan Alveolus Paru (Hansel dan Barnes)[13]

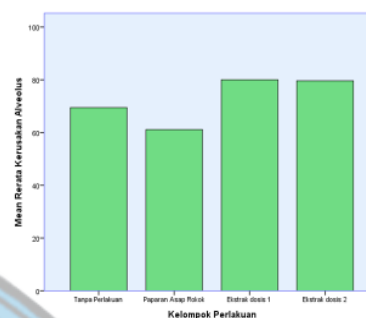
| **Kriteria** | **Keterangan** | **Nilai Variasi** |
|---|---|---|
| Normal | Tidak terjadi perubahan histologis | 0 |
| Kerusakan Ringan | Kerusakan alveolus paru □ 0% sampai □ 30% dari kerusakan maksimal | 1 |
| Kerusakan Sedang | Kerusakan alveolus paru 30%-60% dari kerusakan maksimal | 2 |
| Kerusakan Berat | Kerusakan alveolus paru □ 60% kerusakan maksimal | 3 |

**Analisa Statistika**

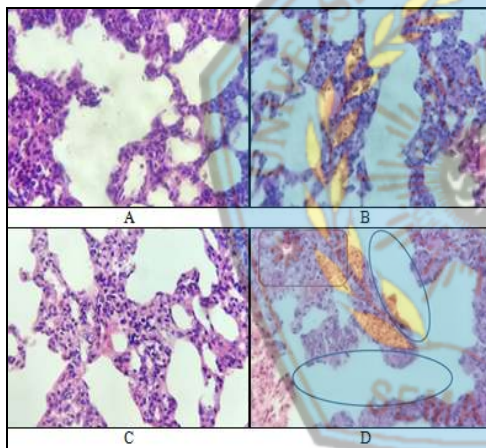
Data yang diperoleh diolah dengan program komputer *SPSS*. Data di uji normalitas data menggunakan uji *One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test.* Oleh karena distribusi data tidak normal sehingga digunakan uji beda menggunakan uji statistik parametrik *Kruskal-Wallis Test.*

**Hasil**

**Hasil Penelitian**

Hasil pembacaan dan perhitungan derajat kerusakan alveolus paru meliputi destruksi septum alveolar, edema paru, dan infiltrasi sel radang dengan hasil seperti pada Grafik 1.

**Grafik 1. Data Deskriptif Rerata Kerusakan Alveolus pada sampel penelitian**

Data tersebut menunjukkan bahwa rerata derajad kerusakan alveolus pada kelompok kontrol sehat sejumlah (69,44) kelompok perlakuan 1 (P1) sejumlah (80,00) dan kelompok perlakuan 2 (P2) sejumlah (79,63) sedangkan yang terendah yaitu pada kelompok kontrol paparan asap rokok (K) sejumlah (61,11). Hasil uji normalitas data terhadap variabel penelitian dengan S*aphiro-Wilk Test Test* bernilai $P = 0{,}012$ dimana $p < 0{,}05$ yang berarti bahwa data variabel-variabel penelitian tersebut tidak terdistribusi normal sehingga dilakukan analisis statistik *Kruskal-Wallis Test.*

Hasil analisa statistik dengan *Kruskal-Wallis Test* didapatkan nilai *P* = 0.464. Hal ini menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaaan yang bermakna derajat kerusakan alveolus pada tiap kelompok, baik kelompok sehat, kelompok yang dipapar asap rokok tanpa diberikan ekstrak buah kersen serta kelompok yang diberikan ekstrak buah kersen baik dosis 100 mg / kgBB / hari maupun 200 mg / kgBB / hari.

**Gambar 4.1.** Gambaran histopatologi paru pada keempat kelompok, yaitu kelompok kontrol sehat (gambar A), kelompok control negatif (gambar B) kelompok perlakuan 1 (gambar C), dan kelompok perlakuan 2 (gambar D), (pembesaran 400x).

A. Kelompok Kontrol sehat : Radang 70%, Edema 60%, Destruksi 50%
B. Kelompok Kontrol negatif : Radang 60%, Edema 30%, Destruksi 40%
C. Kelompok Perlakuan 1, EBK dosis 100 mg/kg BB): Radang 50%, Edema 50%, Destruksi 60%
D. Kelompok Perlakuan 2, EBK dosis 200 mg/kg BB): Radang 70% (kotak merah dan area lain yang serupa), Edema 70% (area dalam kotak merah dan area lain yang serupa), Destruksi 80% (lingkaran biru)

**Diskusi**

Studi ini menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaaan yang bermakna derajat kerusakan alveolus pada tiap kelompok, baik kelompok sehat, kelompok yang dipapar asap rokok tanpa diberikan ekstrak buah kersen serta kelompok yang diberikan ekstrak buah kersen baik dosis 100 mg / kgBB / hari mapun 200 mg / kgBB / hari. Rerata derajat kerusakan alveolus pada kelompok kontrol sehat sejumlah (69,44) kelompok perlakuan 1 (P1) sejumlah (80,00) dan kelompok perlakuan 2 (P2) sejumlah (79,63) sedangkan yang terendah yaitu pada kelompok kontrol paparan asap rokok (K) sejumlah (61,11). Walaupun terdapat perbedaan pada tiap kelompok namun berdasarkan kriteria penilaian derajat kerusakan alveolus paru, derajat pada semua kelompok termasuk dalam kriteria berat, dimana kerusakan alveolus paru > 60% kerusakan maksimal.

Nilai skor perubahan struktur histopatologi paru semakin meningkat sesuai

dengan dosis ekstrak yang diberikan. Hal ini sesuai dengan teori hubungan konsentrasi dan respon, yaitu semakin tinggi konsentrasi, semakin besar pula respon yang timbul (respon terapi dan respon toksik), sehingga pada rentang dosis tertentu, konsentrasi obat pada reseptor tidak hanya menimbulkan efek terapi, tetapi dapat juga menimbulkan efek toksik.[14] Perubahan struktur histopatologi yang terjadi pada paru ini menunjukkan bahwa pendapat masyarakat tentang obat alternatif yang tidak memiliki efek samping, aman dan praktis adalah kurang tepat, oleh karena itu, masyarakat diharapkan lebih waspada dan hati-hati dalam mengkonsumsi ekstrak buah kersen. Dalam penelitian ini terdapat keterbatasan yang dipengaruhi oleh adanya faktor-faktor seperti tingkat dosis, jumlah sampel dan waktu yang terbatas.

Buah kersen mengandung antioksidan antara lain vitamin C, vitamin E, fenol, flavonoid dan antosianin.[11] Komponen antioksidan seperti asam fenol, polifenil dan flavonoid mampu memangsa radikal bebas dan menghambat mekanisme oksidatif. Pemberian ekstrak methanol buah kersen dosis 200 mg/kgBB/hari pada tikus yang diinduksi hepatotoksik mampu meningkatkan kadar antioksidan enzimatis pada jaringan hepar secara signifikan antara lain SOD, CAT dan *Glutathione peroxidase* (GPx). Selain itu juga didapatkan penurunan kadar vitamin E dan C yang signifikan setelah pemberian ekstrak buah kersen. Hal ini membuktikan bahwa efek hepatoprotektif terjadi karena kemampuan ekstrak buah kersen untuk memblokir bioaktivasi dari toksin dan merupakan antioksidan yang poten dalam menangkap radikal bebas dan menghambat peroksidasi lipid. Vitamin C dan vitamin E mampu bertindak sebagai *scavenger* radikal bebas yang penting yang mampu digunakan sebagai pemutus rantai (*chain-breaking antioxidant*) di membran. Vitamin E mengurangi hidroperoksida lipid yang dihasilkan selama proses peroksidasi dan melindungi struktur sel terhadap kerusakan sel.[15]

Kandungan antioksidan lain pada buah kersen yaitu flavonoid, yang memiliki aktivitas antiinflamasi, antialergi, anti-virus, dan anti-karsinogenik. Salah satu mekanisme yang dapat digunakan untuk menjelaskan hubungan antara aktivitas anti-inflamasi dan

anti-oksidan adalah reaksi yang disebabkan oleh ROS. ROS yang merupakan jenis stimulus inflamasi, yang menyebabkan pelepasan oksida nitrat (NO). Hal tersebut menunjukkan bahwa pemblokiran ROS akan menyebabkan penurunan sintesis NO, yang pada gilirannya akan mengarah pada aktivitas anti-inflamasi, anti kanker dan anti-oksidan.[16]

Walaupun beberapa literatur menyatakan bahwa ekstrak buah kersen mengandung antioksidan, namun studi ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak buah kersen tidak berpengaruh terhadap gambaran mikroskopis paru tikus yang di papar asap rokok. Walaupun terdapat perbedaan pada tiap kelompok namun berdasarkan kriteria penilaian derajat kerusakan alveolus paru, derajad pada semua kelompok termasuk dalam kriteria berat, dimana kerusakan alveolus paru > 60% kerusakan maksimal. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi obat pada reseptor tidak hanya menimbulkan efek terapi, tetapi dapat juga menimbulkan efek toksik.[14] Walaupun demikian masih diperlukan studi lebih lanjut mengenai suplementasi buah kersen dengan populasi yang lebih besar untuk menilai peran antioksidan buah kersen terhadap perubahan fungsi paru pada perokok.

## Simpulan

Pemberian ekstrak buah kersen tidak berpengaruh terhadap gambaran histopatologi paru tikus yang di papar asap rokok.

## Daftar Pustaka


1. World Health Organization. Global Alliance against Chronic Respiratory Diseases (GARD). Geneva: WHO; 2008.

2. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease [homepage on the Internet. Bethesda: GOLD [cited 2012 Dec 10]. Global Strategy for the Diagnosis, Management and Prevention of PPOK---Revised, 2011. Available from: http://www.goldPPOK.org/

3. de Faria CA, de las Heras Kozma R, Stessuk T, Ribeiro- Paes JT. Experimental basis and new insights for cell therapy in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. Stem Cell Rev. 2012;8(4):1236-44.

4. Ribeiro-Paes JT, Stessuk T, de las Heras Kozma R. Cell Therapy in Chronic Obstructive Pulmonary Disease: State of the Art and Perspectives. In: Ong KC, editor. Chronic Obstructive Pulmonary Disease - Current Concepts and Practice. Rijeka: InTech; 2012.

5. Muhammad I. Efek Antioksidan Vitamin C Terhadap Tikus )Rattus

norvegicus L) Jantan Akibat Pemaparan Aasap Rokok. Tesis. Bandung. 2009.

6. Diken H, Kelle M, Tomer C, Denuz B, Baylan Y, Permet A. Effects of Cigarrete Smoking on Blood Antioxidant Status in Short-term and Long-term Smokers. Turk J Med Sci. 2001 (31)553-557.

7. Drath DB,Karnovsky ML, Huber GL. Tobacco smoke. Effects on Pulmonary host defense inflammation.USA. 1979;3(3):281

8. Rima A, Suradi, Surjanto E dan Yunus F. Korelasi antara jumlah makrofa, neutrofil dan kadar enzim matrix metalloproteinase (MMP)-9 Pada cairan kurasan Bronkial perokok. Surakarta. J Respir Indo. 2007.

9. Crystal, RG., 1991. Biologi of Free Radicals, Introduction. Am J Med, 91:15.

10. Noguci N and Niki E., 1999. Chemistry of Active Oxygen Species and Antioxidationts in Antioxidant Status, diet, Nutrition, nad Health. Edited by Papas AM. CRC Press. New York.

11. Gomathi R, Anusuya N and Manian S. A Dietary Antioxidant Supplementation of Jamaican Cherries (Muntingia Calabura L) Attenuates Inflammatory Related Disorders. Food Sci.Biotechnol. 2013.

12. World Health Organization Regional Office for The Western Pacific. Research guidelines for evaluating the safety and efficacy of herbal medicines. The World Health Organization Regional Office for the Western Manila.; 1993.35

13. Hansel T.T. dan Barnes P.J. An Atlas of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. London: Parthenon Publishing Group. 2004.pp: 22-36

14. Mycek Mj, Harvey RA, Champe PC. Farmakologi Ulasan Bergambar. 2nd ed.Jakarta: Widya Medika;2001.p21.

15. Prior, R. Fruits and Vegetables in The Prevention of Cellular Oxidative Damage.' Arkansas. Am. J. Clin. Nutr. Vol 78 2003. : 570S-8S.

16. Kormin, S. The effect of Heat Processing on Triterpene Glycosides and Antioxidant Activity of Herbal Pegaga (Centella Asiatica L. Urban) Drink. (Tesis). Kuala Lumpur : Universiti Teknologi Malaysia.2005.